


# **SUSTAINED RELEASE PHARMACEUTICAL AND ITS PRODUCTION**

**Publication number:** JP4208217 (A)

**Also published as:**

**Publication date:** 1992-07-29

 JP3026228 (B2)

**Inventor(s):** MATSUO YASUSHI; FUJIMOTO SEI; GEN JIYOUKIYUU +

**Applicant(s):** EARTH CHEMICAL CO; BIOMATERIAL UNIVERSE KK +

**Classification:**

- International: A61K9/14; A61K38/00; A61K38/21; A61K38/22; A61K38/43; A61K47/34; B01J2/06; A61K9/14; A61K38/00; A61K38/21; A61K38/22; A61K38/43; A61K47/34; B01J2/02; (IPC1-7): A61K9/14; A61K37/02; A61K37/24; A61K37/465; A61K37/48; A61K37/66; A61K47/34; B01J2/06

- European:

**Application number:** JP19900330741 19901130

**Priority number(s):** JP19900330741 19901130

## **Abstract of JP 4208217 (A)**

**PURPOSE:**To increase the amount of an eluted water-soluble physiologically active substance in use by controlling the amount of the aforementioned physiologically active substance eluted in elution tests in a sustained release pharmaceutical having the above-mentioned physiologically active substance supported on a carrier composed of at least polylactic acid.; **CONSTITUTION:**In a microspherical sustained release pharmaceutical having a water-soluble physiologically active substance, preferably a human epithelial cell growth factor, its derivative or polypeptide fragment supported on a carrier composed of at least polylactic acid, preferably D,L-lactic acid polymer or a copolymer of D,L-lactic acid and glycolic acid, the amount of the aforementioned physiologically active substance within 24hr based on the whole amount thereof is controlled to >30wt.%, preferably 60-99wt.% in elution tests. Thereby, the amount of the above-mentioned eluted physiologically active substance is increased in use to extremely advantageously control and sustain pharmacological action of the aforementioned physiologically active substance. As a result, treating effects are more safely and precisely improved.

Data supplied from the *espacenet* database — Worldwide

## ⑫ 公開特許公報(A)

平4-208217

⑬ Int. Cl.<sup>5</sup>

A 61 K 9/14

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成4年(1992)7月29日

K

7329-4C

L

7329-4C

G

7329-4C※

審査請求 未請求 請求項の数 5 (全8頁)

⑮ 発明の名称 徐放性製剤およびその製造方法

⑯ 特 願 平2-330741

⑰ 出 願 平2(1990)11月30日

特許法第30条第1項適用 平成2年8月21日~23日、社団法人日本薬学会主催の「日本薬学会第110年会」において文書をもって発表

⑱ 発 明 者 松 尾 泰 兵庫県赤穂市新田12-3  
 ⑱ 発 明 者 藤 本 聖 兵庫県赤穂市中浜町2-4 瀬戸ハイツ13号  
 ⑱ 発 明 者 玄 丞 侑 京都府宇治市宇治御廟29-13  
 ⑲ 出 願 人 アース製薬株式会社 兵庫県赤穂市坂越3218-12  
 ⑲ 出 願 人 株式会社バイオマテリアル・ユニバース 京都府京都市南区東九条南松ノ木町43番地の1  
 ⑳ 代 理 人 弁理士 萩 野 平 外3名  
 最終頁に続く

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

徐放性製剤およびその製造方法

## 2. 特許請求の範囲

(1) 少なくともポリ乳酸からなる担持体に保持させた水溶性生理活性物質を有する微小球状の徐放性製剤であって、溶出試験における該水溶性生理活性物質の24時間以内の溶出量が該水溶性生理活性物質全量に対し30重量%より大きいことを特徴とする徐放性製剤。

(2) 前記ポリ乳酸がD、L-乳酸ポリマーまたはD、L-乳酸とグリコール酸とのコポリマーからなることを特徴とする請求項1記載の徐放性製剤。

(3) 前記水溶性生理活性物質がヒト上皮細胞成長因子またはその誘導体またはそのポリペプチド断片であることを特徴とする請求項1または2記載の徐放性製剤。

(4) 請求項1記載の徐放性製剤を製造する方法において、水溶性生理活性物質とポリ乳酸を溶解

した溶液を該溶液の貧溶媒中でエマルジョンを形成した後、該エマルジョンを乾燥することを特徴とする徐放性製剤の製造方法。

(5) 前記溶液中に界面活性剤を添加することを特徴とする請求項4記載の徐放性製剤の製造方法。

## 3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は水溶性生理活性物質を含有する徐放性製剤及びその製造方法に関するものである。

〔従来の技術〕

近年、ドラッグデリバリーシステム(DDS)の研究が進むにつれ医薬品の投与経路に適した製剤とすることで薬効を最大限に高めると同時に副作用を最小限にしたり、あるいは体内消失の速い薬剤の効力を持続させることに成功している。例えば、硫酸モルヒネを高級アルコールとアルキルセルロースからなるマトリックスで包み、ペインクリニックの点で有用性を示す検討など徐放性製剤について多くの検討がなされている。この徐放性製剤の検討において、既に外科領域における医療用基

材として安全性が確認されているポリ乳酸及び乳酸のコポリマーの徐放性担体としての応用が注目されている。

ポリ乳酸を用いた徐放性製剤製造の試みとしては、既に多くの知見がある。例えば、特開昭60-100516号公報には、W/O/W型の三層エマルジョンを形成した水中乾燥法によるポリ乳酸マイクロカプセルの製造方法が示され、更に特開平1-216918号公報にはO/O型、あるいはW/O型エマルジョンを形成させた後、液中乾燥法によりポリ乳酸マイクロスフェアの製造方法が示されている。

一方生体内生理活性物質の多くの作用は標的細胞の細胞膜に存在する特異的レセプターに結合することから始まり、一定時間該レセプターに結合して始めて作用するものが多い。

〔発明が解決しようとする課題〕

しかし、前記のポリ乳酸マイクロカプセルの製造方法は煩雑で、かつ薬物とポリ乳酸以外にゼラチン等の第三成分が必要であり、三層構造のため

数ミクロンの微細なマイクロカプセルは得にくく、かつ該カプセル中への薬物の取り込み率も低い。また前記のポリ乳酸マイクロスフェアの製造方法ではマイクロスフェアの薬剤の溶出が7日後でも含有量の60%程度しかなく、生理活性物質を用いた場合、実質的に薬量不足が起こる。

そこで、本発明者らは適切な薬剤濃度を維持するための徐放性製剤を鋭意検討した結果、乳酸ポリマーを用い水溶性生理活性物質の24時間以内に溶出する量を従来に比べ増大した徐放性製剤を発明した。

〔課題を解決するための手段〕

本発明は下記(1)～(5)記載のものであり、これにより上記課題を解決できる。

(1) 少なくともポリ乳酸からなる担持体に保持させた水溶性生理活性物質を有する微小球状の徐放性製剤であって、溶出試験における該水溶性生理活性物質の24時間以内の溶出量が該水溶性生理活性物質全量に対し30重量%より大きいことを特徴とする徐放性製剤。

3

(2) 前記ポリ乳酸がD、L-乳酸ポリマーまたはD、L-乳酸とグリコール酸とのコポリマーからなることを特徴とする上記(1)記載の徐放性製剤。

(3) 前記水溶性生理活性物質がヒト上皮細胞成長因子またはその誘導体またはそのポリペプチド断片であることを特徴とする上記(1)または(2)記載の徐放性製剤。

(4) 上記(1)記載の徐放性製剤を製造する方法において、水溶性生理活性物質とポリ乳酸を溶解した溶液を該溶液の貧溶媒中でエマルジョンを形成した後、該エマルジョンを乾燥することを特徴とする徐放性製剤の製造方法。

(5) 前記溶液中に界面活性剤を添加することを特徴とする上記(4)記載の徐放性製剤の製造方法。

本発明において、徐放性製剤の溶出試験における溶出量とは、37℃において徐放性製剤約10mg当たり1mlになるようリン酸緩衝生理食塩水中に徐放性製剤を浸漬し、およそ80から100rpmで振盪して、24時間以内に徐放性製剤から該リン酸緩衝生理食塩水中へ該水溶性生理活性物

5

4

質が放出した量を当初の全水溶性生理活性物質重量で除した値であり、これを本発明においては30重量%より大きく、好ましくは60～99重量%以上に制御したものである。

該制御の方法としては、ポリ乳酸の選択（例えば、モノマー成分のD、L体の配合割合の選定によるポリマーの一種、分子量限定、コポリマーのためのモノマー選択等）、製造方法の選択（例えば、O/O型、W/O型等の使用溶媒の選択）、製造時に他の成分を徐放性製剤に共存させること（例えば、界面活性剤等の乳化剤等の選定）等が挙げられ、これらを適宜組み合わせることにより、該溶出量を制御し得る。

本発明における水溶性生理活性物質としては、ポリペプチド等が好適であるが、特にこれに制限されることなく、ポリペプチド等との併用あるいはポリペプチド以外の他の公知の薬剤も使用し得る。

本発明において好ましい水溶性生理活性物質を例示すれば、アミノ酸53個からなる天然型ヒト

6

上皮細胞成長因子(ヒトEGF)、もしくは安定性、活性の増大を目的とした誘導体(例えば特開昭63-122989号公報など)、さらには天然型もしくはその誘導体を断片化したものが挙げられる。

また他の水溶性生理活性物質としてはインスリン、ソマトスタチン、ソマトスタチン誘導体、各種成長ホルモン、プロラクチン、副腎刺激ホルモン(ACTH)、メラノサイト刺激ホルモン(MSH)、甲状腺ホルモン放出ホルモン(TRH)およびその塩およびその誘導体、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、黄体形成ホルモン(FSH)、バソプレシン及びその誘導体、オキシトシン、カルシトニン、副甲状腺ホルモン、グルカゴン、ガストリン、セキレチン、バンクレオザイミン、コレシストキニン、アンジオテンシン、ヒト胎盤ラクトゲン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(HCG)、エンケファリン及びその誘導体、エンドルフィン、キョウトルフィン、インターフェロン( $\alpha$ 型、 $\beta$ 型、 $\gamma$ 型)、インターロイキン(I、II、III)、

タフトシン、サイモポエチン、サイモシン、サイモスチムリン、胸腺液性因子(THF)、血中胸腺因子(FTS)及びその誘導体、腫瘍壊死因子(TNF)、コロニー刺激因子(CSF)、モチリン、ディノルフィン、ボムベシン、ニューロテノン、セルレイン、ブオダイキシン、ウロキナーゼ、アスパラギナーゼ、カリクレイン、サブスタンスP、神経成長因子、血液凝固因子の第VIII因子、第IX因子、塩化リゾチーム、ポリミキシンB、コリスチン、グラミシン、バシドラシン、形質転換増殖因子(TGF)及びその誘導体又はその活性断片、EDIN、塩基性及び酸性線維芽細胞増殖因子(FGF)などが例示できる。

本発明に使用されるポリ乳酸とは、D-乳酸および/またはL-乳酸がエステル結合等によりポリマー化もしくは他の共重合性モノマーとコポリマー化したものであるならば、その構造は特に制限させることはなく、D-乳酸のみの重合体であるポリ-D-乳酸でも、D-乳酸とL-乳酸との重合体であるポリ-D、L-乳酸であってもよく、

7

該ポリ-D、L-乳酸はD体とL体がランダムに結合したものであってもブロック状に結合したものであっても、あるいは上記乳酸重合体形成成分と他の共重合性モノマーとのコポリマーでもよい。該コポリマーとしては、例えば、D、L-乳酸-グリコール酸コポリマー、D、L-乳酸-ポリエチレングリコールコポリマー、D、L-乳酸とラクトン類とのコポリマーなどが挙げられる。

本発明において、好ましいポリ乳酸は、ポリ-D、L-乳酸、D、L-乳酸-グリコール酸コポリマー等が挙げられる。

該ポリ乳酸は、加水分解速度や水溶性生理活性物質との相溶性などの目的に応じて用いることができ、またそれらの分子量は特に限定されないが重量平均分子量が3,000以上50万までの範囲が用いられ、好ましくは3,000以上50,000まで、より好ましくは3,000以上20,000までが良い。さらにポリ乳酸と同じ生体内分解性吸収ポリマーであるポリ- $\beta$ -ヒドロキシブチレート、3-ヒドロキシブチレートと4-ヒ

8

ドロキシブチレートとのコポリマー、ポリデブシペプチド、ポリジオキサノン等も使用できる。

本発明の徐放性製剤としては、上記ポリ乳酸及び水溶性生理活性物質以外に通常の医薬品製剤に使用される固形希釈剤、担体、結合剤、賦形剤及び補助剤なども添加しうる。例えばトラガントゴム、アラビアゴム、トウモロコシ澱粉、ゼラチン、アルギン酸、ステアリン酸、マグネシウム、アルブミン、アルミニウムモノステアレート、蜜ろう、蔗糖、乳糖、メチルパラベン、プロピルパラベン、マンニッド、プロピレングリコール、結晶セルロース、ケイ酸カルシウム、シリカ、ポリビニルピロリドン、セトステアリルアルコール、カカオ脂、乳酸エチル、ステアリン酸カルシウム、タルク、オレイン酸、リノール酸等が挙げられる。

本発明における水溶性生理活性物質の溶出量の測定方法は、該徐放性製剤からの該生理活性物質の溶出量が測定できれば何ら限定されない。例えば、水溶性生理活性物質とポリ乳酸からなる徐放性製剤の所定量を37℃のリン酸緩衝生理食塩水

9

10

(pH 7.3~7.65)に浸漬し、緩やかに攪拌し経時的に該緩衝液中に放出された該生理活性物質を液体クロマトグラフィー、ラジオレセプターアッセイ、ラジオイムノアッセイなどにて測定する方法などが挙げられる。

本発明の徐放性製剤の製造方法としては、該水溶性生理活性物質の溶出量を確保できれば、その製造方法の詳細は任意であるが、上記(4)の方法が好ましく、例示すればポリ乳酸及び水溶性生理活性物質を各々溶媒に溶解した後、混合して混合物とし、この溶媒に対する貧溶媒中に該混合物を混合し分散させた後、エマルジョンを乾燥、例えば、液中乾燥することで生理活性物質含有ポリ乳酸微小球を形成し、これを貧溶媒から濾別し、該微小球表面に付着した貧溶媒を除去することにより製造しうる。この貧溶媒中における液中乾燥法としては、有機溶媒／水混合系の場合はO/O型エマルジョン液中乾燥法と酢酸系の場合はW/O型エマルジョン液中乾燥法の基本的には二つの方法がある。そして、両方法とも徐放性製剤の製造を容

易にするため貧溶媒中に乳化剤を添加しても良い。

本発明のポリ乳酸の溶媒としては各種有機溶媒あるいは有機酸が挙げられる。有機溶媒としては、水と任意の割合でよく混ざり、かつ該貧溶媒と混ざらないものが好ましい。例えば、アセトニトリル、ジオキサン、アセトン、エチルアルコール、メチルアルコール、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、フェノール、ジメチルスルホキシド、プロピルアルコール、グリセリン、またはエチレングリコール等が好ましいが、これらの有機溶媒の中でも特にアセトニトリルとジオキサンが好ましい。また、有機酸としては、酢酸、ギ酸、グリコール酸、あるいは乳酸が好ましいが、これらの中でも特に酢酸が好ましい。さらに、酢酸の誘導体及びその塩、例えば酢酸メチル、酢酸エチル、トリクロロ酢酸、トリフルオロ酢酸、あるいは酢酸ナトリウム、酢酸カルシウム、酢酸カリウム等の水あるいはアルコール等の溶媒に溶解した物も使用できる。酢酸の場合は水酢酸が好ましいが、水酢酸に溶解しにくい場合は、80~90%

1 1

の酢酸溶液を使用するのが良い。

本発明の水溶性生理活性物質の溶媒としては水が用いられる。そして、水溶性生理活性物質を溶解するために界面活性剤、有機酸等各種溶助剤を添加することもできる。例えばヒト上皮細胞成長因子の溶解補助剤としては、水に1容量%酢酸を添加することなどが例示できる。更に水溶性生理活性物質溶液とポリ乳酸溶液を均一に混合し水溶性生理活性物質の該溶出量を制御するため、あるいはその含有量を高めるため、あるいは更に徐放性製剤の容器への付着を防止するために界面活性剤をポリ乳酸溶媒および／または水溶性生理活性物質溶媒に添加できる。例えば、このような界面活性剤として、好ましくは非イオン性界面活性剤が挙げられる。具体的にはポリソルベート80（商品名：ツイーン80 ICI社製）、ポリオキシエチレン（9モル付加）オクチルフェニルエステル（商品名：トリトンX-100 和光純薬製）、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアリキルエーテル、ポリオキシエチレン硬化ヒマ

1 2

シ油誘導体、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル等が例示できる。

そしてポリ乳酸の有機溶媒あるいは有機酸による溶液と水溶性生理活性物質溶液の混合において、ポリ乳酸の析出を防止する為、ポリ乳酸の溶媒と水溶性生理活性物質溶液の水との混合比を考慮する必要がある。例えばアセトニトリル（O/O型）あるいは酢酸（W/O型）を用いる場合、有機溶媒（あるいは有機酸）と水との混合比率は有機溶媒：水が70：30~99.9：0.1（用量比）の範囲、好ましくは75：25~95：5の範囲が好ましい。

本発明の製造方法における貧溶媒は、水溶性生理活性物質溶液とポリ乳酸溶液の混合溶液と実質的に相溶性がなく、該混合溶液とO/O型またはW/O型等のエマルジョンを形成することにより、生理活性物質含有ポリ乳酸微小球を形成する溶媒であって、かつ該微小球に付着した溶媒の除去が容易なものが良く、例えば、シリコンオイル、流動パラフィン、あるいは綿実油、ゴマ油、ヒマシ

1 3

1 4

油、コーン油等の植物油や油脂またはトルエン、キシレン、ヘキサン等の有機溶媒が使用できる。

また、貧溶媒中に添加する乳化剤としては、HLB 3～6.5 の非イオン性界面活性剤が用いられ、ポリソルベート 80 (商品名: ツイーン 80 ICI 社製)、ポリオキシエチレン (9 モル付加) オクチルフェニルエステル (商品名: トリトン X-100 和光純薬製)、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアリキルエーテル、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油誘導体、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリソルビタン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステルなどがあり、ソルビタンモノステアレート、ソルビタンジステアレート、ソルビタンモノオレート (スパン 80, 関東化学社製)、ソルビタンセスキオレート、ソルビタントリオレート、レシチン (例えば大豆レシチン) 等が例示できる。これら乳化剤の添加量は、通常疎水性貧溶媒 100 重量部に対し、0.01～5 重量部、好ましくは 0.01～2 重量部である。

15

は眼内投与剤などに適用できる。特に角膜創傷治癒促進剤などの眼内投与剤として適用されうる。

#### 〔作用〕

本発明の徐放性製剤はポリ乳酸の種類、あるいは更に界面活性剤等の存否あるいは種類等の条件を選定することによりそのポリ乳酸マトリックス内及び表面に担持される水溶性生理活性物質の存在状態に差を生じさせることができるため、使用時における該生理活性物質の溶出量を所望の範囲に制御することができるものと考えられる。

#### 〔実施例〕

以下に実施例に従い更に本発明を詳細に説明する。但し本発明は実施例に限定されるものではない。

#### 実施例 1

重量平均分子量約 5000 のポリ-D, L-乳酸 405 mg を 6.75 ml の水酢酸に溶解した溶液に、ヒト EGF (凍結乾燥品、アース製薬社製) 750  $\mu$ g を 0.75 ml の 1 (v/v) % 酢酸水溶液に溶解した溶液を攪拌しながら混合した。該

17

乳化操作は、プロペラ型攪拌法、コロイドミル法、ホモジナイザー法、超音波照射法、マイクロフルイダイザー等の公知の分散法が適用できるが、数ミクロンサイズの微小球を得るには超音波照射法が好ましく、また数 10 nm～数 100 nm の微小球を得る場合にはマイクロフルイダイザーが適しており、該微小球の径を整えるための各種操作も行いえる。

かくして超音波照射法等により得られた O/O 型、あるいは W/O 型エマルジョンからのポリ乳酸等のポリマーと水溶性生理活性物質との共通溶媒を系外に留去することにより生理活性物質含有ポリ乳酸マイクロスフェアが生成するが、これを貧溶媒中から濾過または遠心操作により分離した後、微小球表面に付着残存する貧溶媒除去のためヘキサン系の有機溶媒にて洗浄し、乾燥手段を施すことにより本発明の微小球を製造することができる。

本発明により得られる徐放性製剤は注射剤、経口投与剤、経皮吸収剤、座剤、経鼻投与剤あるい

16

混合溶液を貧溶媒としてスパン 80 (関東化学社製) 0.07 (w/v) % 含有する 150 ml の流動パラフィン (片山化学社製) 中に、プロペラ型攪拌機 (ミキシングエクイップ社製) による攪拌 (約 300 rpm) 下で滴下し微小球を形成し、40℃、21 時間加温下で攪拌を続け酢酸及び水を蒸発させた。そして穴径 177  $\mu$ m のふるいを通し、更にその濾液を穴径 25  $\mu$ m のふるいにて濾過し、微小球の径を揃え、n-ヘキサンで該微小球を洗浄し徐放性製剤を得た。

#### 実施例 2

重量平均分子量約 5000 のポリ-D, L-乳酸 405 mg を 6.75 ml の水酢酸に溶解した溶液に、0.2 (w/v) % ポリソルベート 80 溶液 188  $\mu$ l を攪拌しながら添加した。更に該溶液にヒト EGF 750  $\mu$ g を 0.75 ml の 1 (v/v) % 酢酸溶液に溶解した溶液を攪拌しながら混合した。該混合溶液をスパン 80 (関東化学社製) 0.07 (w/v) % 含有する 150 ml の流動パラフィン (片山化学社製) 中に、プロペラ型

18

攪拌機による攪拌（約300rpm）下で滴下し微小球を形成した。そして以下実施例1と同じ方法で処理し徐放性製剤を得た。

#### 実施例3

重量平均分子量約5000のポリ-D, L-乳酸400mgを6.56mlの水酢酸に溶解した溶液に、0.2(w/v)%オクタルフエニルエステル（商品名：トリトンX-100）溶液188μlを攪拌しながら添加した。更に該溶液にヒトEGF750μgを0.75mlの1(v/v)%酢酸溶液に溶解した溶液を攪拌しながら混合した。該混合溶液をスパン80（関東化学社製）0.07(w/v)%含有する150mlの流動パラフィン（片山化学社製）中に、プロベラ型攪拌機による攪拌下で滴下し微小球を形成した。そして以下実施例1と同じ方法で処理し徐放性製剤を得た。

#### 実施例4

重量平均分子量約5000のポリ-D, L-乳酸405mgを6.0mlのアセトニトリルに溶解した溶液に、ヒトEGF750μgを1.5mlの0.01N塩酸に溶解した溶液を攪拌しながら混合した。該混合溶液をスパン80 1(w/v)%含有する150mlの流動パラフィンにプロベラ型攪拌機による攪拌（約300rpm）下で滴下し微小球を形成した。この溶液を以下実施例4と同じ方法で処理し徐放性製剤を得た。

#### 実施例6

重量平均分子量約5000のポリ-D, L-乳酸540mgを8.0mlのアセトニトリルに溶解した溶液に、ヒトEGF1.0mgを2.0mlの0.01N塩酸に溶解した溶液を攪拌しながら混合した。該混合溶液を大豆レシチン0.05(w/v)%含有する200mlの綿実油にプロベラ型攪拌機による攪拌（約300rpm）下で滴下し微小球を形成した。この溶液を以下実施例4と同じ方法で処理し徐放性製剤を得た。

#### 実施例7

重量平均分子量約10,000のポリ-D, L-乳酸540mgを9.0mlのアセトニトリルに溶解した溶液に、ヒトEGF2.0mgを2.0mlの0.01N塩酸に溶解した溶液を攪拌しながら混合した。該混合溶液を大豆レシチン0.05(w/v)%含有する200mlの綿実油にプロベラ型攪拌機による攪拌（約300rpm）下で滴下し微小球を形成した。この溶液を以下実施例4と同じ方法で処理し徐放性製剤を得た。

0.1N塩酸に溶解した溶液を攪拌しながら混合した。該混合溶液を大豆レシチン0.1(w/v)%含有する150mlのシリコン油に、プロベラ型攪拌機による攪拌（約300rpm）下で滴下した。更に超音波ホモジナイザー（大岳製作所製、5202型）を用いて出力50Wで55分間乳化して微小球を形成し、40℃、21時間加温下で攪拌を続けアセトニトリルを蒸発させた。そして穴径177μmのふるいを通し、更にその濾液を穴径25μmのふるいにて濾過し、微小球の径を揃え、n-ヘキサンで該微小球を洗浄し徐放性製剤を得た。

#### 実施例5

重量平均分子量約5000のポリ-D, L-乳酸405mgを6.0mlのアセトニトリルに溶解した溶液に、ヒトEGF750μgを1.5mlの0.01N塩酸に溶解した溶液を攪拌しながら混合した。該混合溶液をスパン80 1(w/v)%含有する150mlの流動パラフィンにプロベラ型攪拌機による攪拌（約300rpm）下で滴下し微小球を形成した。この溶液を以下実施例4と同じ方法で処理し徐放性製剤を得た。

#### 実施例8

重量平均分子量約5,000のD, L-乳酸-グリコール酸（50:50）コポリマー405mgを6.75mlの水酢酸に溶解した溶液に、ヒトEGF750μgを0.75mlの1(v/v)%酢酸溶液に溶解した溶液を攪拌しながら混合した。該混合溶液をスパン80 0.03(w/v)%含有する200mlの綿実油にプロベラ型攪拌機による攪拌（約300rpm）下で滴下し微小球を形成した。この溶液を以下実施例1と同じ方法で処理し徐放性製剤を得た。

#### 実施例9

実施例1、2、4及び6によって製造された徐放性製剤のヒトEGF含量及び溶出量をin vitro測定した。

ヒトEGFの溶出量は37℃において徐放性製剤約10μg当たり1mlになるようリン酸緩衝生理食塩水中に各実施例の徐放性製剤を浸漬し、およ

そ80～100rpmで振盪して、徐放性製剤から該リン酸緩衝生理食塩水中へヒトEGFを放出させ、経時的に該放出量を求めた。又、各実施例の徐放性製剤中のヒトEGF量は該徐放性製剤10mgに0.01N塩酸溶液1容量部に対してアセトニトリルを9容量部混合した溶媒1mlを加え、55～60℃、100rpm、5分攪拌し崩壊させ、クロロホルム500μlを加え激しく攪拌した後、更に0.01N塩酸溶液900μlを加え再攪拌する。この溶液を遠心分離(約3000rpm、10分)により水相とクロロホルム相に分け、水相中のヒトEGF量を求めた。ヒトEGF量をHPLC、ラジオリセプターアッセイ及びラジオイムノアッセイにて測定した。

上記試験結果を初期含量に対する比率で表し、表1及び2に示す。

表1

浸漬時間 (分)	ヒトEGF溶出量(%)	
	実施例1	実施例2
5	48.7	61.2
30	62.3	80.2
60	69.4	84.1
120	74.0	87.2
240	81.9	89.2
480	86.8	90.7
720	90.1	91.7
1440	96.1	94.8
2880	100.0	98.0

表2

浸漬時間	ヒトEGF溶出量(%)	
	実施例4	実施例6
30分	79.2	85.4
24時間	96.0	98.2
48時間	99.2	99.5
72時間	100.0	99.8
96時間	—	100.0
120時間	—	—

## 〔発明の効果〕

本発明は上記の如く、極めて有利に水溶性生理活性物質の薬理作用を行えうる条件を制御、持続できるので、種々の治療において生理活性物質の投与量を所望の値に設定できるため、治療効果を

23

一層、安全、的確に上げることができる。例えば、角膜欠損等の治療において単なる点眼液に比べ治療速度の増加が認められた。

また、本発明は徐放性製剤中に多量の生理活性物質を保持でき、かつ簡便に製造しうるなどの特徴を有する。

代理人弁理士(7387)萩野 平

(ほか3名)

24

25



第1頁の続き

⑤Int. Cl.<sup>5</sup>

A 61 K 37/02  
37/24  
37/465  
37/48  
37/66  
47/34

B 01 J 2/06

識別記号

庁内整理番号

H  
B  
C

8317-4C  
8317-4C  
8317-4C  
8317-4C  
8317-4C  
7329-4C  
7329-4C  
2102-4G